

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平8-504799

(43) 公表日 平成8年(1996)5月21日

(51) Int.Cl. <sup>o</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I
A 6 1 K 38/21	ACS	9455-4C	
31/195			
38/00	ADY	9455-4C	A 6 1 K 37/66 ACS H
		9455-4C	37/02 ADY
			審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願平6-514930  
 (86) (22) 出願日 平成5年(1993)12月20日  
 (85) 翻訳文提出日 平成7年(1995)6月21日  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB93/02600  
 (87) 国際公開番号 WO94/14473  
 (87) 国際公開日 平成6年(1994)7月7日  
 (31) 優先権主張番号 9226729.3  
 (32) 優先日 1992年12月22日  
 (33) 優先権主張国 イギリス (GB)  
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, CA, HU, JP, K R, NO, PL, RU, UA, US

(71) 出願人 ザ・ウエルカム・ファウンデーション・リミテッド  
 イギリス国、エヌダブリュ1・2ビービー、ロンドン、ユーストン・ロード 160、ユニコーン・ハウス  
 (72) 発明者 ブリエト・バルトゥエナ、ジェサス  
 スペイン国、イー - バムプロナ クアルト、トゥデラ 22  
 (72) 発明者 ベロクイ・ルイズ、オスカー  
 スペイン国、イー - バムプロナ キント・デー、トラベシア・モナステリオ・ウルダックス 2  
 (74) 代理人 弁理士 鈴江 武彦 (外3名)

(54) 【発明の名称】 インターフェロンを含有する治療用組合せ

(57) 【要約】

この発明は、治療用の組合せ、より詳しくはヒトインターフェロンの使用を包含する組合せ治療に関する。この治療には、ヒトインターフェロンとフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質との組合せを用いる、ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状の治療が含まれる。

BEST AVAILABLE COPY

( 2 )

特表平08-504799

## 【特許請求の範囲】

1. ヒトインターフェロンおよびフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を含有する増強された組合せ。
2. ヒトインターフェロンがヒトインターフェロン- $\alpha$ である請求の範囲第1項に記載の組合せ。
3. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が組換体である請求の範囲第2項記載の組合せ。
4. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が天然のものである請求の範囲第2項記載の組合せ。
5. 天然ヒトインターフェロン- $\alpha$ がヒトリンパ芽球様インターフェロンである請求の範囲第4項記載の使用。
6. フリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、グルタチオンまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質である請求の範囲第1項ないし第5項のいずれかに記載の組合せ。
7. フリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、N-アセチルシステインである請求の範囲第1項ないし第5項のいずれかに記載の組合せ。
8. インターフェロンを用いる治療に敏感な症状の治療に用いられる請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の組合せ。
9. 症状がB型肝炎またはC型肝炎感染である請求の範囲第8項に記載の組合せ。
10. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹

患した患者の治療に用いられる医薬の製造へのヒトインターフェロンの使用であって、前記ヒトインターフェロンを用いる治療がヒトインターフェロンを用いる治療の間にフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法によるものである使用。

11. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹患した患者の治療のための医薬の製造へのフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もし

( 3 )

特表平08-504799

くは誘発物質の使用であって、前記ヒトインターフェロンを用いる治療がヒトインターフェロンおよびフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を用いる治療を包含する方法によるものである使用。

12. ヒトインターフェロンがヒトインターフェロン- $\alpha$ である請求の範囲第10項ないし第11項のいずれかに記載の使用。

13. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が組換体である請求の範囲第12項記載の使用。

14. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が天然のものである請求の範囲第12項記載の使用。

15. 天然ヒトインターフェロン- $\alpha$ がヒトリンパ芽球様インターフェロンである請求の範囲第14項記載の使用。

16. フリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、グルタチオンまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質である請求の範囲第10項ないし第15項のいずれかに記載の使用。

17. フリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体

もしくは誘発物質が、N-アセチルシステインである請求の範囲第10項ないし第15項のいずれかに記載の使用。

18. 症状がB型肝炎またはC型肝炎感染である請求の範囲第10項ないし第17項のいずれかに記載の使用。

19. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹患した患者の治療に用いられる医薬の製造へのヒトインターフェロンの使用であって、該患者はヒトインターフェロンを用いる治療に応答することができなかった患者であり、前記ヒトインターフェロンを用いる治療がヒトインターフェロンを用いる治療の間にフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法によるものである使用。

20. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹患した患者の治療のための医薬の製造へのフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の使用であって、該患者はヒトインターフェロンを用いる治療に応答することができなかった患者であり、前記ヒトインターフェロンを用いる治療

( 4 )

特表平08-504799

がヒトインターフェロンおよびフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を用いる治療を包含する方法によるものである使用。

21. 患者が従前にヒトインターフェロンを用いる治療に応答していた請求の範囲第19項および第20項のいずれかに記載の使用。

22. ヒトインターフェロンがヒトインターフェロン- $\alpha$ である請求の範囲第19項ないし第21項のいずれかに記載の使用。

23. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が組換体である請求の範囲第22項記載の使用。

24. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が天然のものである請求の範囲第22項記載の使用。

25. 天然ヒトインターフェロン- $\alpha$ がヒトリンパ芽球様インターフェロンである請求の範囲第24項記載の使用。

26. フリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、グルタチオンまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質である請求の範囲第19項ないし第25項のいずれかに記載の使用。

27. フリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、N-アセチルシステインである請求の範囲第19項ないし第25項のいずれかに記載の使用。

28. 症状がB型肝炎またはC型肝炎感染である請求の範囲第19項ないし第27項のいずれかに記載の使用。

29. 請求の範囲第1項ないし第7項に記載される組み合わせおよび薬学的に許容し得る担体を含有する医薬製剤。

30. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の組合せを生成するために、投与されることが要求される成分を関連付けて包含する一対のバック。

31. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹患した患者の治療方法であって、該患者に治療上有効な量のヒトインターフェロンおよびフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を投与することを包含する方法。

( 5 )

特表平08-504799

32. ヒトインターフェロンがヒトインターフェロン- $\alpha$ である請求の範囲第31項に記載の方法。
33. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が組換体である請求の範囲第32項記載の方法。
34. ヒトインターフェロン- $\alpha$ が天然のものである請求の範囲第32項記載の方法。
35. 天然ヒトインターフェロン- $\alpha$ がヒトリンパ芽球様インターフェロンである請求の範囲第34項記載の方法。
36. フリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、グルタチオンまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質である請求の範囲第31項ないし第35項のいずれかに記載の方法。
37. フリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質が、N-アセチルシステインである請求の範囲第31項ないし第35項のいずれかに記載の方法。
38. 症状がB型肝炎またはC型肝炎感染である請求の範囲第31項ないし第37項のいずれかに記載の方法。
39. ヒトインターフェロンを用いる治療に敏感な症状に罹患した患者の治療方法であって、該患者はヒトインターフェロンを用いる治療に応答することができなかった患者であり、ヒトインターフェロンおよびフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の有効量を用いる患者の治療を包含する方法。
40. 患者が従前にヒトインターフェロンを用いる治療に応答していた請求の範囲第39項に記載の方法。
41. 症状がB型肝炎またはC型肝炎感染である請求の範囲第39項および第40項のいずれかに記載の方法。

( 6 )

特表平08-504799

## 【発明の詳細な説明】

## インターフェロンを含有する治療用組合せ

この発明は治療用の組合せ、特にヒトインターフェロンの使用を包含する組合せ治療に関する。

ウイルス感染に対する動物の最初の、かつ局所的な応答は、リンホカイン、インターフェロンを産生することである。インターフェロンは、最初は単一の分子であると考えられていたが、現在では蛋白質の巨大な集合であると認識されており、進化の面では古く、動物界に広く分布している。限られた交差反応性が多少あるものの、インターフェロンは通常種特異的である。当初白血球、線維芽細胞および免疫インターフェロンとして知られ、現在はそれぞれインターフェロン $\alpha$ 、 $\beta$ および $\gamma$ と呼ばれる3つの型のインターフェロンの特徴付けがなされている。

ヒトインターフェロンは多くの異なるタイプの細胞によって産生され、このタイプのインターフェロンは、HPLCによって、各々異なる遺伝子によってコードされる30を越えるサブタイプに分解されている。ヒトインターフェロン $\beta$ は、一般に、単一の物質で線維芽細胞によって産生されていると考えられている。ヒトインターフェロン $\gamma$ もまた、抗原に晒される際のT-リンパ球のヘルパー誘発サブセットにより、またはヒト白血球、T-リンパ球、もしくはT-リンパ球様細胞をマイトジェンに晒すことにより産生される単一の物質である。

ヒトインターフェロン $\alpha$ は、ナマルワ [Namalwa] ヒト

リンパ芽球様細胞株をセンダイウイルス [Sendai virus] で刺激してインターフェロン $\alpha$ の少なくとも21種類のサブタイプの天然混合物を産生させ、次いで、クロマトグラフィーによって純度約95%、約 $100 \times 10^6$  IU/mg 蛋白の特異活性まで精製することにより、商業的な規模で製造される。ヒトインターフェロン $\alpha$ -NIと同定されるこの生成物は、WELLFERON (ウェルカム・ファンデーション・リミテッド [Wellcome Foundation Limited] の登録商標) の名の下に市販されている。天然ヒトインターフェロン $\beta$ は、通常新生児組織に由来する、二倍体線維芽細胞から誘導され、その産生は、例えば、合成二重鎖RNAを

( 7 )

特表平08-504799

加えることにより誘発される。ヒトインターフェロン $\gamma$ は、スタフィロコッカス・エンテロトキシンA [Staphylococcus enterotoxin A]のようなマイトジェンをインデューザとして用いて、バフィコートから作製することができる。

ヒトインターフェロン $\alpha$ 、 $\beta$ および $\gamma$ はまた組換えDNA技術を用いて産生させることもできるが、細菌細胞中で関連遺伝子の発現によって産生される場合には、組換えインターフェロンは天然分子と同じ三次構造を有してはいない可能性がある。同様に、細菌細胞内で産生されたインターフェロンはグリコシル化されていないが、これはイン・ビトロでの試験ではこの分子の生物学的活性に影響を与えるようには見えず、代わりにコンホメーションおよび抗原性に影響を与え、かつ体内での分布に影響を与える可能性がある。この組換えヒトインターフェロンは、天然ヒトインターフェロンと、

好ましくは、90%を越えるアミノ酸相同性を、より好ましくは95%の相同性を、さらに好ましくは97%の相同性を、さらに好ましくは98%の相同性を、さらに好ましくは99%の相同性を、最も好ましくは100%の相同性を有している。組換えヒトインターフェロンは市販されており、インターフェロン $\alpha-2a$  (ROFERON-ロッシュ [Roche]) およびインターフェロン $\gamma-2a$  (INTRON-シェリング [Schering]) がその例である。これらの分子は、23位の一つのアミノ酸残基で異なる (ROFERONにおいてはリジン、INTRONにおいてはアルギニン)。

ヒトインターフェロンは肝炎の治療に数年間用いられている。1970年代中期における最初の試行では、献血液からの血漿の生成の後に残されたバフィコート細胞から産生されたヒト白血球インターフェロンが用いられ、これでは必然的に利用可能な量が限られていた。1980年代初期、製造技術の進歩により、慢性B型肝炎の治療に天然および組換え両ヒトインターフェロン $\alpha$ が使用されるようになった。多くの場合、この治療は成功であるとみなすことができるが、ヒトインターフェロン $\alpha$ 単独での治療に対する応答率は、ウイルスマーカーの持続的な減少で判断すると、一般に50%未満であると考えられる。ヒトインターフェロン $\beta$ および $\delta$ もまた慢性B型肝炎における使用について調査されたが、いまだ

( 8 )

特表平08-504799

確立された治療にはなっていない。

3種類のタイプの全てのインターフェロンはまた、インターフェロン- $\beta$ の低い能力がこの型のインターフェロンでの

作用を制限しているにもかかわらず、慢性C型肝炎の治療において調査されている。上で言及される $\alpha$ -インターフェロン（インターフェロン $\alpha$ -2a、インターフェロン $\alpha$ -2bおよびリンパ芽様インターフェロン）を用いて非常に広範な試行が行なわれており、結果は患者の約40%に完全な応答が起こるという励みになるものである。しかしながら、治療の6ヶ月後に約50%の再発率が観察され、その結果、長期的に利益を受けるのは20ないし25%の患者のみであろう。

肝炎の治療におけるインターフェロンの使用を完全に見直すためには、EddlestonおよびDixonによる“肝臓の慢性ウイルス感染の治療におけるインターフェロン [Interferons in the Treatment of Chronic Virus Infection of the Liver]” (Pennine Press, 1990)という書籍を参照することができる。

加えて、インターフェロンは、肝炎以外のウイルス性疾患、自己免疫を含む免疫系に関する不調、並びに直腸ガン、乳ガン、大腸ガン、カポジ肉腫、グリオームおよび悪性の血液病学的状態を含む様々な種類のガンを包含する他の多くの状態の治療に用いることが提唱されている。

慢性のウイルス感染が感染臓器において酸化ストレス [oxidative stress] を引き起こすことを示唆する幾つかの証拠が、特にHIVにおいて、存在する。ウイルスによる酸化ストレスの誘発は、免疫複合体による貪食細胞の活性化、前炎症性 [proinflammatory] サイトカイン (TNF $\alpha$ 、IL6) によるフリーラジカル形成およびウイルス表面糖タ

ンパクと細胞膜との直接相互作用による反応性酸素種の生成を含む様々な機構によるものであり得る。

細胞もしくは臓器全体のレベルで、フリーラジカルスカベンジャーとして作用する多くの物質が知られている。例えば、還元されたグルタチオンは、フリーラジカルに対する解毒反応を含む様々な代謝機能に関連している哺乳動物細胞のほ



( 9 )

特表平08-504799

とんどに広く分布して存在する非蛋白チオールである。グルタチオンは酸化的ストレスに対する主たる細胞内防御機構であり、フリーラジカル形成を増加させる因子は結果として細胞内グルタチオンの蓄積の消耗を招く。グルタチオンはまた、リンパ球の活性および増殖、T細胞の細胞毒性並びにマクロファージーリンパ球相互作用の調節において重要な免疫調節の役割を果たす。

N-アセチルシステインは、粘液溶解性の角膜外傷治療剤、およびアセトアミノフェン中毒に対する解毒剤として、長年知られている。この化合物は、比較的穏やかな還元効果を有しており、ムコ蛋白質のジスルフィド結合を開裂することにより粘液溶解性として作用するものと考えられている。幾つかの慢性のウイルス性疾患、特にH I V感染において、還元されたグルタチオンのレベルが低下するという報告が多くなされている。N-アセチルシステインはグルタチオンの前駆体、したがって誘発物質であり、H I V感染の場合に用いられる治療薬として提唱されている。

E P-A-0 268 017 (シータス [Cetus] ) は、リンホカインもしくはサイトトキシンとフリーラジカル生成によって引

き起こされる哺乳動物ホストに対する生物学的損傷を治療するためのフリーラジカスカベンジャーもしくは代謝阻害剤との組合せに関する。この明細書は、おまけでリンホカインとしてのインターフェロンに言及し、生物学的損傷の可能性のある原因として感染を論じているが、本質的にはガンの治療の間に生成しうるフリーラジカルに関するものである。この明細書に掲載される生物学的データは全てガンに関するものであり、主にネズミ線維肉腫におけるTNF $\alpha$ の投与に関するものである。

この発明は、ヒトインターフェロンを用いる治療への、フリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の補助剤としての使用に関する。

したがって一面によると、この発明は、インターフェロンを用いる治療に敏感な疾患に罹患した患者の治療方法であって、この患者に有効量のヒトインターフェロンを投与することを包含し、かつヒトインターフェロン投与の全てもしくは

( 10 )

特表平08-504799

一部の期間にフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法を提供する。

他の面によると、この発明は、ヒトインターフェロン投与の全てもしくは一部の期間にフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法による、インターフェロンを用いる治療に敏感な疾患の治療に用いられる医薬の製造へのヒトインターフェロンの使用が提供される。

さらなる面によると、この発明は、ヒトインターフェロン

の投与を包含し、ヒトインターフェロン投与の全てもしくは一部の期間にフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法による、インターフェロンを用いる治療に敏感な疾患の治療のための医薬の製造へのフリーラジカスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の使用を提供する。

インターフェロンを用いる治療に敏感な疾患は、ヒトインターフェロンが有効な治療であるとして確立されつつあり、もしくは提唱されているいかなる疾患であってもよい。この疾患には、ウイルス性肝炎、ヒトパピローマウイルス、サイトメガロウイルスおよびHIVによって引き起こされる疾患のようなウイルス感染、結核のような非ウイルス感染、並びに喘息のような疾患が含まれる。

この発明は、特に、肝炎の治療におけるヒトインターフェロンの使用に適用することができる。既に示されているように、そのような治療が多くの場合多大な利益をもたらすものであるとしても、応答率は比較的低く、C型肝炎の場合にはかなりの率で再発する。したがって、ヒトインターフェロンを用いる肝炎の治療において、これらの問題を解消するための改良が大変必要とされている。

この発明と共に用いられるヒトインターフェロンの例には、前述のものが含まれる。

他の面によると、この発明は、ヒトインターフェロンを投与することによるウイルス性肝炎感染の治療方法であって、ヒトインターフェロン投与の全てもしくは一部の期間にフリ

( 11 )

特表平08-504799

ーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法を提供する。

さらなる面によると、この発明は、ヒトインターフェロン投与の全てもしくは一部の期間にフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法による、ウイルス性肝炎感染の治療に用いられる医薬の製造へのヒトインターフェロンの使用が提供される。

さらに別の面によると、この発明は、ヒトインターフェロンの投与を包含し、ヒトインターフェロン投与の全てもしくは一部の期間にフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質をも投与する方法による、ウイルス性肝炎感染の治療のための医薬の製造へのフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の使用を提供する。

さらなる面によると、この発明は、インターフェロンを用いる治療に敏感な疾患の治療に用いられる、ヒトインターフェロンとフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質との、相乗作用的組み合わせ [synergistic combination] としても知られる増強された組合せ [potentiated combination] を提供する。この発明の増強された組合せの活性成分は、同時に投与しても、あるいは別々の製剤として連続的に投与しても、あるいは単一の組合せ製剤として投与してもよい。連続的に投与する場合には、第2の活性成分の投与の遅れは、活性成分の組合せの増強された治療効果の利益を失うようなものであるべきではな

い。この発明は、すべての形態のウイルス性肝炎、すなわち、現在、それぞれA、B、C、DおよびE型肝炎と名付けられて認識されている5つのタイプの治療に適用することができる。

A型肝炎は、糞-口経路によって伝染し、40日未満の潜伏期を伴う急性ウイルス感染である。このウイルスは、ピコルナウイルス [picornavirus] 科の一員であり、27nmのエンベロープで覆われていない球状粒子である。このウイルスのゲノムは配列決定がなされており、約7480塩基を有する一本鎖RNAを含む。

B型肝炎は、全世界で20億を越えると見積られるキャリアを擁する、普遍的か

( 12 )

特表平08-504799

つ重篤なウイルス性疾患である。これが血清肝炎として知られていたとき、この疾患は、輸血、ヒト血漿画分の注射または針が未消毒のシリンジの使用の2ないし3ヶ月後の症状の出現に基づいて診断した。B型肝炎の血清マーカーを認識することにより、ウイルスの伝染における皮膚浸透および、特に、血液の重要性が確証された。疾患の急性期に続いて、成人患者の多くはおよそ数週間以内に自然に回復するが、一部は多くの月日の後もウイルスが除去されず、慢性のキャリアに移行する。B型肝炎ウイルスはヘパドナウイルス [hepadna virus] 科に属しており、そのゲノムはDNAの小さく、不完全な二重鎖環状片からなっている。このゲノムは、そのDNAをRNAに複製し、次いで逆転写酵素を用いてRNAをDNAに再複製することにより増殖する。

非A非B型肝炎は、ますます重大となる国際的な健康問題として認識されつつある。慢性の輸血後非A非B型肝炎の症例の少なくとも80%は、現在C型肝炎として同定されているウイルスによるものであることが示されており、このウイルスは、恐らく、血液製剤をB型肝炎についてスクリーニングしている臨床環境における輸血後肝炎の事実上全ての症例の原因である。急性C型肝炎感染のおよそ半数は数ヶ月にわたる期間で自然治癒するが、残りは慢性となり、全てではないとしてもその多くの場合は、硬変および肝細胞カルシノーマの可能性を伴う活動性慢性肝炎が引き続き起こる。C型肝炎ウイルスゲノムの構造は近年明らかになっており、フラビウイルス [flavivirus] との類似性を有する一本鎖RNAウイルスとして特徴付けられている。

D型肝炎ウイルスは、B型肝炎の特定の患者において新規抗原が同定されたことに続いて、1977年に最初に認められた。このウイルスは、増殖のためにB型肝炎（もしくは密接に関連するヘパドナウイルス）をヘルパーウイルスとして必要とする。その増殖が、血清中においてヘルパーウイルスよりも高い力価に到達することができるほど十分に能率的であるにも拘わらずである。D型肝炎ゲノムは、共有結合的に接近した環状RNAからなり、植物中に見出される特定の環状ウィロイドまたはウイルス様因子との幾らかの構造類似性を有している。D型肝炎感染は攻撃性の肝疾患と関連付けられ、持続的な慢性肝炎を有する患者よりも重

篤な疾患（活動性慢性肝炎または硬変）を有する患者にしばしば見出される。

E型肝炎はA型肝炎を引き起こすウイルスに関連し（Reyes et al., Science 247, 1335-1339 (1990)）、慢性期がない急性型の肝炎を生じる。このウイルスは腸、水系感染、通常は糞／口経路によって伝染する。これは特にインド亜大陸で蔓延しており、妊婦の高い致死率を産み出している。

この発明はまた、非生殖性のいぼ、若年性喉頭パピローマ、尖圭コンジロームに応答し得る因子であり、頸部ガンに関連するヒトパピローマウイルスの治療に適用することができる。この発明はまた、ヒトサイトメガロウイルスおよびHIVによって引き起こされるもののような他のウイルス感染の治療に適用することもできる。この発明はまた、結核のような非ウイルス感染および喘息のような症状の治療に用いることもできる。

この発明に従って用いられるヒトインターフェロンは、上で言及される3つのタイプ、すなわち、インターフェロン- $\alpha$ 、インターフェロン- $\beta$ またはインターフェロン- $\gamma$ のいずれであってもよい。一般に、ヒトインターフェロンは、インターフェロン- $\alpha$ もしくはインターフェロン- $\gamma$ である。

好ましくは、ヒトインターフェロンはヒトインターフェロン- $\alpha$ であり、より好ましくは、培養液中のヒト細胞株に由来するヒトインタフェロン- $\alpha$ または組換えヒトインターフェロン- $\alpha$ である。好ましい態様の一つによると、ヒトインターフェロンは組換えインターフェロン $\alpha$ -2 aまたはインターフェロン $\alpha$ -2 b、例えばロフェロン [ROFERON] およびイントロンの商品名で市販されている製品の一つである。他の特

に好ましい態様によると、ヒトインターフェロンはヒトリンパ芽球様インターフェロン（インターフェロン $\alpha$  N1）、例えばウェルフェロン [WELLFERON] の商品名でザ・ウェルカム・ファウンデーション・リミテッドによって市販されている製品である。

「ヒトインターフェロン」という用語は、その配列がヒト由来で決定された野生型インターフェロン、および対応する野生型配列の活性を実質的に保持し、対

( 14 )

特表平08-504799

応する野生型配列と80%を越える配列相同性を有するそれらの対立形質、変種または変異体をも含むことを意図している。

ヒトインターフェロンは、問題となる症状、例えば肝炎、の治療に単独で用いられる場合と同様にして、この発明による投与のために処方することができる。したがって、このインターフェロンは一般に、非経口的に、例えば注射により、好ましくは皮下注射により投与される。このインターフェロンは、好ましくは、水性調製品または、注射用に適当な担体、例えば水、で戻すことを目的とする凍結乾燥製品として処方される。この処方または、適当な担体、希釈剤または安定化剤、例えば、ヒト血清アルブミンのような他のヒト蛋白質を含んでいてもよい。

ヒトインターフェロンは、一般に、問題となる製品について確立されている治療プロトコルに従って投与される。例えば、ヒトインターフェロンは、リンパ芽球様であろうと組換え体であろうと、1日当りインターフェロン1ないし10メガユニットの投与量で投与することができる。この投与量は、1週当

り3日以上、好ましくは1週当り3回投与することができる。

好ましい投与量範囲は、1週当り3日以上、好ましくは1週当り3回、1日当りインターフェロン2ないし6メガユニットであり、インターフェロンの特定の投与量は、1週当り3日以上、好ましくは1週当り3回、1日当り5メガユニット、最も好ましくは3メガユニットである。肝炎の治療においては、インターフェロン投与の期間は通常数週間、例えば12ないし30週間、特には約24週間であるが、幾らかの場合には1年以上までのより長い期間の治療を割り当てることもできる。

ここで用いられる場合には、「フリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質」という用語は、ホストへの投与の際に、ホスト体内のフリーラジカル（酸化ストレスとも呼ばれる）のレベルを減少させることが可能な物質を意味する。この物質は、フリーラジカルを直接除去することにより、あるいは、ホスト生体内にフリーラジカルに対する除去効果を有する物質の生成を、直接の生物学的な前駆体として、もしくは他の方法で誘発することにより、フ

( 15 )

特表平03-504799

リーラジカルのレベルの減少をもたらすことができる。あるいは、この物質は、フリーラジカルの生成を導くプロセスにおいて阻害効果を及ぼすことにより、フリーラジカルのレベルを減少させてもよい。

好ましいフリーラジカルスキャベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質には、グルタチオンおよび、天然アミノ酸であるシステインの誘導体のようなそれらの前駆体が含まれる。グルタチオンの特に好ましい前駆体の一つがN-ア

セチルシステインである。上に示されるように、N-アセチルシステインは既に粘液溶解性という確立された医薬用途を有しており、この化合物の医薬調製品を購入することができる。他のフリーラジカルスキャベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質には、ビタミンA、ビタミンC（アスコルビン酸）、ビタミンE、尿酸、プチオニンスルホキシム、ジエチルマレエートメトロニダゾール、スーパーオキシドディスムターゼおよびメチオニンが含まれる。フリーラジカルの生成を阻害する物質には、アロプリノールのようなキサンチンオキシダーゼの阻害剤が含まれる。

フリーラジカルスキャベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質は、ホスト生体になににおいて、フリーラジカルの生成を減少させ、および/またはフリーラジカル生成（酸化的ストレス）の効果を軽減することができるような形態および投与量で投与されるべきである。投与は、その物質の性質により、都合のよい経路、例えば、経口もしくは非経口により行なうことができる。可能な場合には、経口投与が好ましい。

N-アセチルシステインは、錠剤または顆粒の形態で、あるいは液状調製品、例えばシロップとして、経口投与のために処方されることが好ましい。N-アセチルシステインの適切な投与量は、1日当り4回まで投与される投与量当り200mgないし4gの範囲、例えば、1日当り4回の投与で400ないし800mg、好ましくは1日当り4回の投与で600mgである。

この発明に従って提供される、例えばウイルス性肝炎に対

する治療は、ヒトインターフェロンとフリーラジカルスキャベンジャーまたはそれ

( 16 )

特表平08-504799

らの前駆体もしくは誘発物質とを組合せた投与からなるが、2種類の医薬は一般に別々の調製品として投与される。しかしながら、特定の状況においては、2種類の成分を組合せた調製品として投与することに利益があり、この発明はそのような組合せた調製品をも包含する。

したがって、さらなる面によると、この発明は、ヒトインターフェロンをフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質と一緒に含む医薬組成物を提供する。

一般に、このような組合せ調製品は、非経口投与、例えば注射を意図する形態にある。このような組合せ調製品は、液状形態または、凍結乾燥されたヒトインターフェロンを含み、液体形態に戻すのに適した固体形態で提供することができる。

2種類の医薬を別々の投与に適した形態と一緒に提供することもまた適当である。他の面によると、この発明は、ヒトインターフェロンとフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質とを、別々に投与するための関連付けにおいて包含する一対のパックを提供する。

この発明は、B型肝炎またはC型肝炎の治療に特に適用可能である。上に示されるように、ヒトインターフェロン、特に組換えもしくはリンパ芽球様インターフェロン- $\alpha$ の投与は、既にB型肝炎の確立された治療である。加えて、多くの試行が、同様の治療がC型肝炎の治療においてもかなり有益であることを示している。この発明によると、インターフェ

ロンを用いる肝炎、特にB型肝炎もしくはC型肝炎に罹患した患者の治療が、本質的には確立されたプロトコルに従い、これにヒトインターフェロンを用いる治療の期間の全てもしくは一部の期間でのフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を用いる治療を加えて、行なわれる。

血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) レベルは、肝機能障害の高感度マーカーである。B型肝炎およびC型肝炎感染は、両者共、ALTレベルの上昇で特徴付けられ、疾患の進行は一般に血清ALTの測定によって監視される。上に示されるように、B型肝炎またはC型肝炎を患う患者の約50%もしくはそ



( 17 )

特表平08-504799

れ以下のみが、ウイルスマーカーの有意の除去またはALTレベルの低下によって示されるとおり、ヒトインターフェロン $\alpha$ を用いる治療に応答する。

B型肝炎またはC型肝炎に特に適用可能であり、C型肝炎に最も適用可能なこの発明の一態様によると、ヒトインターフェロン、特にヒトインターフェロン $\alpha$ を用いる治療が、数週間、例えば12ないし30週間、特に24週間の期間にわたる通常の方法で行なわれる。血清ALTレベルの有意の減少によって示される、このヒトインターフェロンを用いる治療の初期過程に応答することができなかった患者には、ヒトインターフェロンを用い、さらにフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質、好ましくはグルタチオンまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質、最も好ましくはN-アセチルシステインを用いる治療を加えて、治療

が継続される。ヒトインターフェロンおよびフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質を用いる治療は、さらに数週間、例えば12ないし30週間、特に約24週間継続することができる。この発明の好ましい態様によると、この治療プロトコルは、ヒトリンパ芽球様インターフェロン（ヒトインターフェロン $\alpha$ -N1）を用いるC型肝炎の治療に適用される。

同様に上に示されるように、B型肝炎またはC型肝炎を患う特定の患者は、ヒトインターフェロン、特にヒトインターフェロン $\alpha$ を用いる治療に最初は応答するが、続いて再発してしまうことがある。このような患者もまた、上に概説される、ヒトインターフェロンとフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質とを用いる治療の組合せ過程から利益を受ける。

ヒトインターフェロンおよびフリーラジカルスカベンジャーまたはそれらの前駆体もしくは誘発物質の投与量が、患者並びに患者が被っている正確な状態によって変化することは理解されるべきである。最後に、この治療は付添い医師の制御の下「で、付添い医師の責任において行なわれる。

この発明を以下の予備研究によってさらに説明するが、これらは、いかなる意味においても、この発明の範囲を限定するものとみなされるべきではない。

#### 実施例

## 1. 導入

C型肝炎ウイルス (HCV) は、輸血後および散発性非A

非B型肝炎のほとんどの場合の原因である。感染の慢性化はごく当り前のことであり、慢性肝炎、硬変および、最終的には、悪性の変性となる。幾つかの制御された研究により、 $\alpha$ -インターフェロン (IFN) が慢性C型肝炎 (CHC) の治療に有用であるものの、平均応答率が50%であり、IFN停止後の再発頻度が30-40%に達することが示されている。したがって、IFN停止後も正常なトランスアミナーゼレベルを持続するCHC患者の割合は、処置を施した全ての症例のうち、わずかに約20-40%だけである。還元されたグルタチオン (GSH) は、様々な細胞機能に関連付けられる、動物細胞における重要な酸化防止剤であり、GSHの枯渇がAIDSのような幾つかの慢性ウイルス性疾患において病原因的な役割を果たすであろうことが示唆されている。この研究においては、治療の4週間後にIFN治療に応答することができなかったCHC患者に由来する血漿および末梢単球細胞 (PBMC) においてGSHレベルを測定した。チオールの前駆体であるN-アセチルシステインの効果もまた、GSHレベル並びにIFN治療に対する臨床的およびウイルス学的応答について評価した。

## 2. 患者および方法

### 2. 1 患者

組織学的および血清学的基準によりCHCに罹患していると診断され、うち2名は硬変と関連付けられた14名の患者 (男性13名および女性1名、平均年齢51歳、範囲27-71歳) に研究に参加してもらった。全ての患者は $\alpha$ -リンパ芽球様

インターフェロン (Wellferon) を用いる治療を最少期間の4ヶ月 (1週当たり $15 \pm 1.6$  MU、1週当たり9-21 MUの範囲) 施されている; 全ての患者は研究に参加したときに異常なALT値 (約30 IU/L) を示した。IFNに応答するほとんどのCHC患者は、治療の最初の3ヶ月以内にトランスアミナーゼレベルを正常化させ、治療の4ヶ月後にも高いALT値を維持する患者はIFNに応答しない者であると考えることができる。この研究における患者には、以前受けていたもの

( 19 )

特表平08-504799

と本質的に同じであるが、毎日8時間毎に600mgのN-アセチルシステイン (NAC) を経口投与することを加えたIFN処方続けた。3つの症例においてインターフェロンの量がわずかに減少したが (NAC前 $15 \pm 1.8$  MU/週対NAC後 $11.5 \pm 1.3$  MU/週)、経口NAC投与を加えた後にインターフェロン投与量が増加した患者はいなかった。

加えて、最近慢性C型肝炎に罹患していると診断され、いまだ抗ウイルス治療を受けていない10名の患者 (男性8名および女性2名、平均年齢32歳、範囲24-63歳) に、同じ量の経口NACをインターフェロンを用いることなく1ヶ月にわたって摂取させた。26名の健常被験者 (男性14名および女性12名、平均年齢43歳、範囲25ないし79歳) を対照群とした。全ての患者からはインフォームド・コンセント [Informed consent] を書面で受けており、この研究は地区倫理委員会の承認を受けた。

## 2. 2 PBMCおよび血漿におけるGSH測定

PBMC (L-GSH) および血小板の少ない血漿 (P-

GSH) 中のGSHの同時測定のための血液試料を各患者から得た。リンホブレップ [Lymphoprep] (Nycomed Pharma AS, Oslo, Norway) を用いる遠心によりPBMCを単離し、5回洗浄した。単離した細胞を20%過塩素酸 (最終濃度2%) で殺し、遠心 (4℃で1200 g x 10分間) した後、上清を使用時まで-40℃で保存した。血小板の少ない血漿に20%過塩素酸を加え (最終濃度2%)、遠心の後、上清をGSH測定まで-40℃で保持した。

保存試料を解凍し、Brigellus et al., Biochem. Pharmacol., 32, 2529-2534 (1983) によって記述され、Ferrer et al., Biochem. J., 264, 531-534 (1990) によって改変された酵素法に従ってGSHを測定した。GSH-S-トランスフェラーゼの存在下において、GSHを1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン (CDNB) (SIGMA) と結合させ、この複合体の340nmでの吸光度をパーキン・エルマー・ラムダ2 [Perkin-Elmer Lambda 2] 分光光度計を用いて測定した。

$9.6 \times 10^3$  のモル吸光係数を用いてGSHの絶対値を得た。

## 2. 3 RNAの抽出およびRT-PCR

血清中のHCV-RNAについての、並びにPBMC中のHCV-RNAの陽性もしくは陰性のいずれかの標準についての逆転写ポリメラーゼチェーンリアクション(RT-PCR)を、本質的にはRuiz et al., Hepatology, 16, 637-643 (1992)およびCheng et al., J. Hepatol., in press(1992)に記述される通りに行なった。Kwoks and Higuchi, Nature, 339, 237-238 (1989)によって推奨される、汚染の

危険性を減少させる手順を厳密に適用した。陽性および陰性対照において、全ての抽出および反応を同時に行なった。PBMCの最終洗浄からのアリコートも含まれ、これらの試料においてPCRは常に陰性であった。

#### 2. 4 統計分析

全てのデータは、平均±平均の標準誤差(SEM)として表わす。一对の、もしくは対を形成しない[impaired]データの比較は、マン・ウィットニーとウィルコクソンのテスト[Mann Whitney and Wilcoxon tests]を用いて行なった。

#### 3. 図面

結果を添付の図面を参照して記述する。これらの図面において：

図1は、この研究に参加した14名の患者についての、ALTレベルに対するIFN(-4ないし0ヶ月)およびIFN+NAC(0ないし6ヶ月)の効果を示し、

図2は、IFNおよびIFN+NACを用いる治療の間の、PBMCにおけるHCV-RNAの陽性および陰性標準の検出を示し、

図3は、IFNを用いる治療にNACを加える前と後両者の、1:10の血清希釈での血清におけるHCV-RNAの検出を示し、

図4は、IFN治療にNACを導入した後11ヶ月まで追跡したときの、図1に示される患者集団と同じ集団についての平均ALTレベルを示す。

#### 4. 結果

研究に参加した14名の患者の平均血清ALTを以下の表に示す。この表はまた、L-GSHおよびP-GSHをも示す。

( 21 )

特表平08-504799

表

月	平均 ALT	L - G S H	P - G S H
	(IU/L)	(nMol/10 <sup>6</sup> 細胞)	( l m )
-1	139 ± 24		
0	124 ± 24	1.45 ± 0.27	0.77 ± 0.21
+1-2	87 ± 9		
+3-4	53 ± 7	3.32 ± 0.18	2.40 ± 0.20
+5-6	37 ± 3		

対照群に対するL-GSHおよびP-GSHの値は以下の通りである。

L - G S H	3.43 ± 0.89	nMol/10 <sup>6</sup> 細胞
P - G S H	18.1 ± 4.08	nM

抗ウイルス治療を受けていない慢性C型肝炎患者では、血漿中 ( $0.63 \pm 0.07$  l M) およびPBMC中 ( $1.02 \pm 0.09$  nMol/10<sup>6</sup>細胞) のGSHレベルが、健常対照 (それぞれ、 $18.1 \pm 4.08$  l Mおよび $3.43 \pm 0.89$  nMol/10<sup>6</sup>細胞、 $P < 0.01$ ) と比較して非常に低下しているように見える。1ヶ月の間NACを投与することにより、PBMC中のGSHのレベルが上昇したが ( $2.22 \pm 0.38$  nMol/10<sup>6</sup>細胞、 $P <$

$0.05$ )、血漿中のGSHは大して変化しなかった ( $0.99 \pm 0.22$  l M、n.s.)。加えて、血清ALTのレベル ( $128 \pm 32$  IU/L対NACを用いる治療の1ヶ月後 $110 \pm 29$  IU/L) も大して変化しなかった。

インターフェロンに応答しない患者でも、PBMC中 ( $1.45 \pm 0.27$  nMol/10<sup>6</sup>細胞) および血漿中 ( $0.77 \pm 0.21$  l M) のGSHレベルが、対照値 ( $P < 0.01$ ) と比較して非常に低下しているように見える。この患者では、3.4ヶ月にわたってインターフェロンと共にNACを投与した結果、単球細胞中 ( $3.32 \pm 0.18$  nMol/10<sup>6</sup>細胞、 $P < 0.05$ ) および血漿中 ( $2.40 \pm 0.20$  l m、 $P < 0.05$ ) においてGSHが非常に増加した。

図1 および上記表は、研究に参加した患者 (インターフェロンに応答しない患

( 22 )

特表平08-504799

者)では、4ヶ月のIFN治療の間ALTレベルは大きく変化しなかった ( $139 \pm 24$ 対 $124 \pm 17$  IU/L, n.s.) ことを示している。しかしながら、経口NACを加えた結果、ALTが急速に、大きく減少した; 組合せ治療のわずか1ヶ月後であっても、ALT値は大きく減少した ( $87 \pm 9$  IU/L,  $P < 0.05$ )。さらに、5-6ヶ月の期間にわたってIFNとNACとを連続的に投与することにより、全ての症例においてALT値がさらに減少し ( $37 \pm 4$  IU/L)、症例の41%が正常値に、残りはほぼ正常値 (1症例における56 IU/Lが最大) に達した。IFN処方にNACを加えることにより、以前にはIFN治療に対する非応答者として分類されていた患者の症例において、IFNに対する応答が

明らかに改善される。

IFNとNACとの組合せによるALTレベルの減少には、ウイルスの増殖に対する共働効果が付随する。IFNに対する非応答者として分類された9名の患者の症例において、治療にNACを加える前後で、HCVのゲノム鎖 (陽性RNA鎖) およびこのウイルスの複製可能な中間物 (陰性RNA鎖) の両者の存在についてPBMCを試験した。図2に示されるように、患者がIFNのみで治療される場合には、複製可能な中間物は3名の患者 (33%) で検出されたのに対して、ゲノム鎖は7症例 (77%) で検出することができた。しかしながら、IFNおよびNACを用いる組合せ治療を4-6ヶ月施した後には、陽性鎖はわずか2例 (22%) で検出されたにすぎず、陰性HCV-RNA鎖はいずれの症例においても検出することはできなかった。

IFN処方にNACを加えることにはまた、血清中のHCV-RNAのレベルの減少が付随する。図3に示されるように、治療にNACを加えた後には、HCV検出のために血清の濃度を増加させることが必要であった。したがって、NACを加える前には、1:10の血清希釈を用いて症例の100%でHCV-RNAを検出することができたが、治療にNACを加えた後には、同じ血清希釈を用いて患者のわずか70%だけでウイルスが検出された。

( 23 )

特表平08-504799

【図 1】

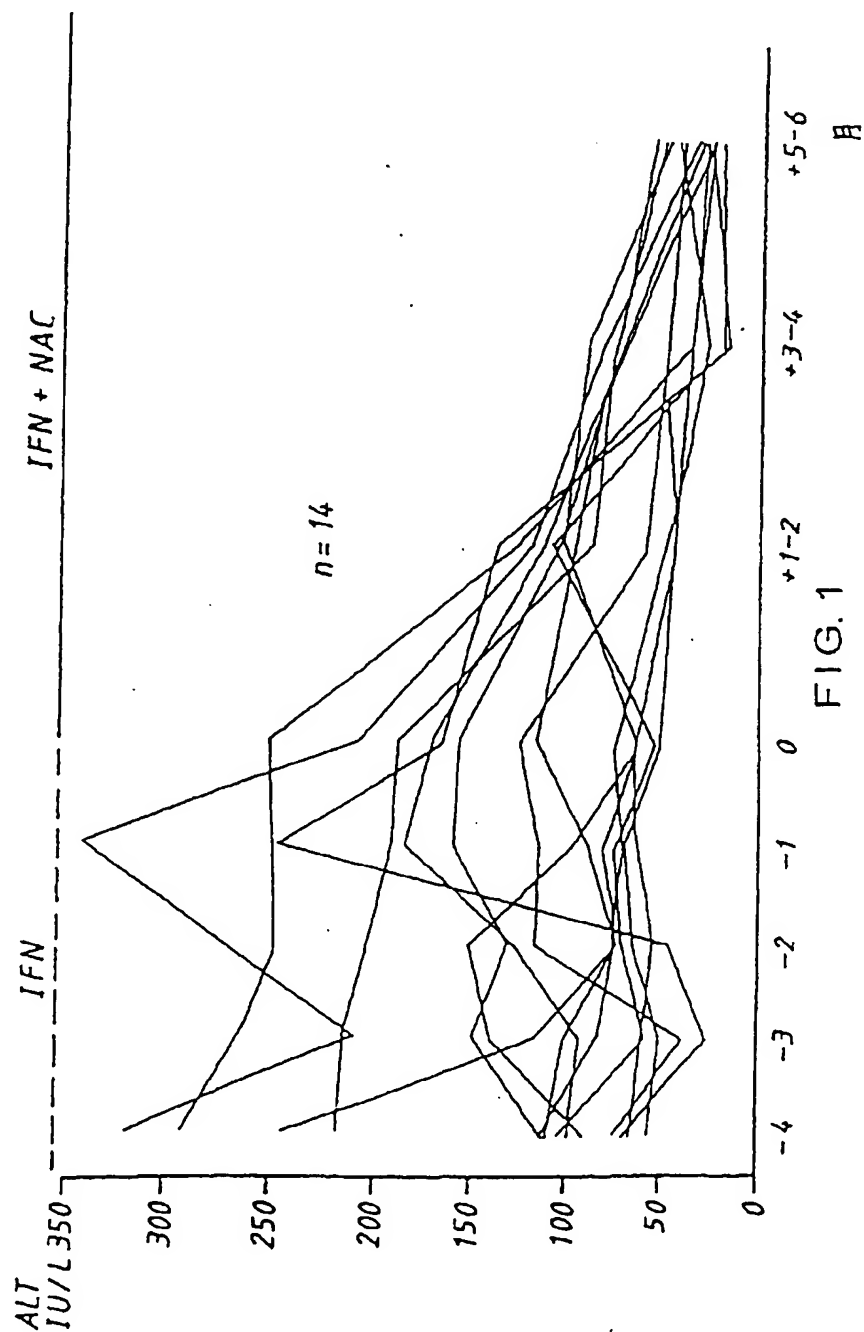


FIG. 1

( 24 )

特表平08-504799

【図2】

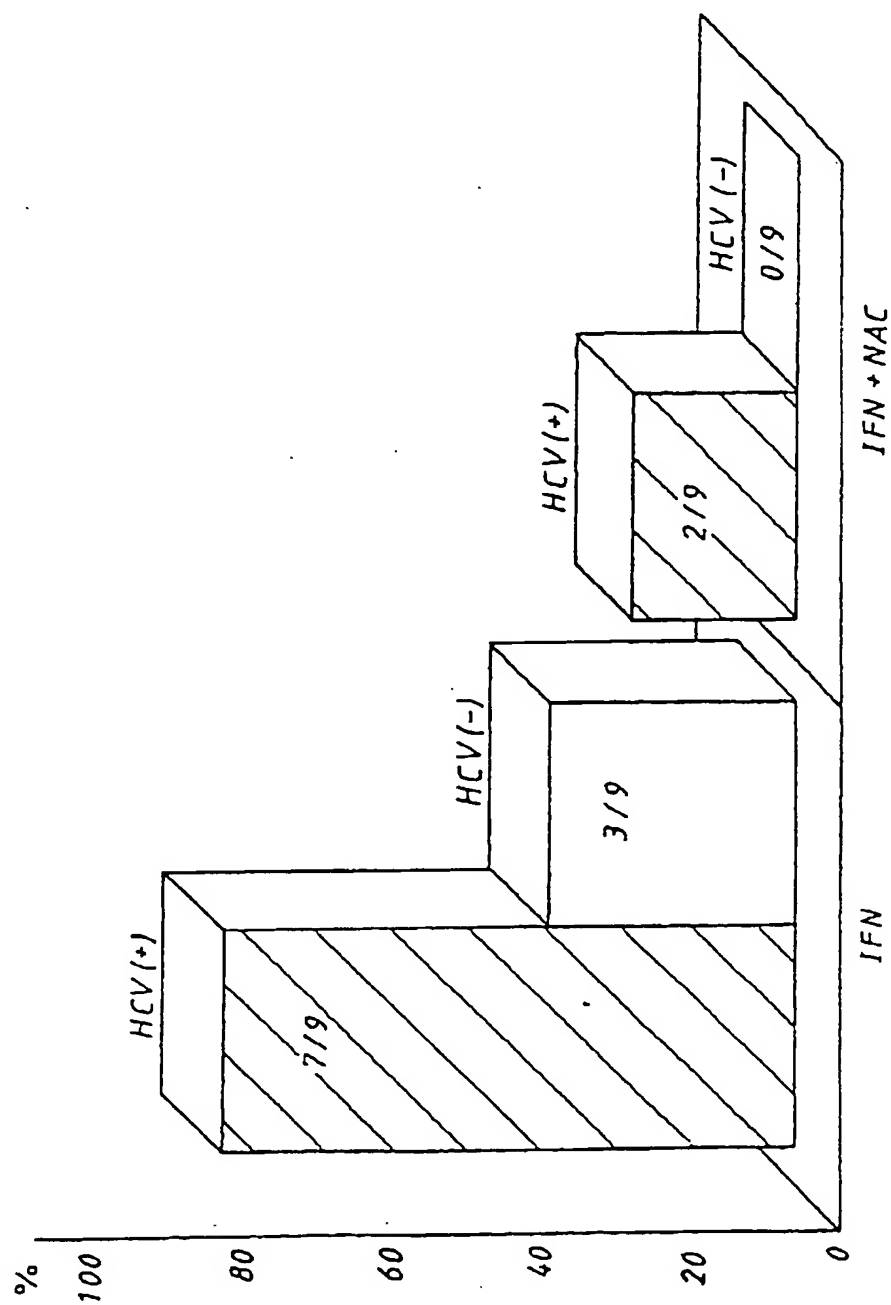


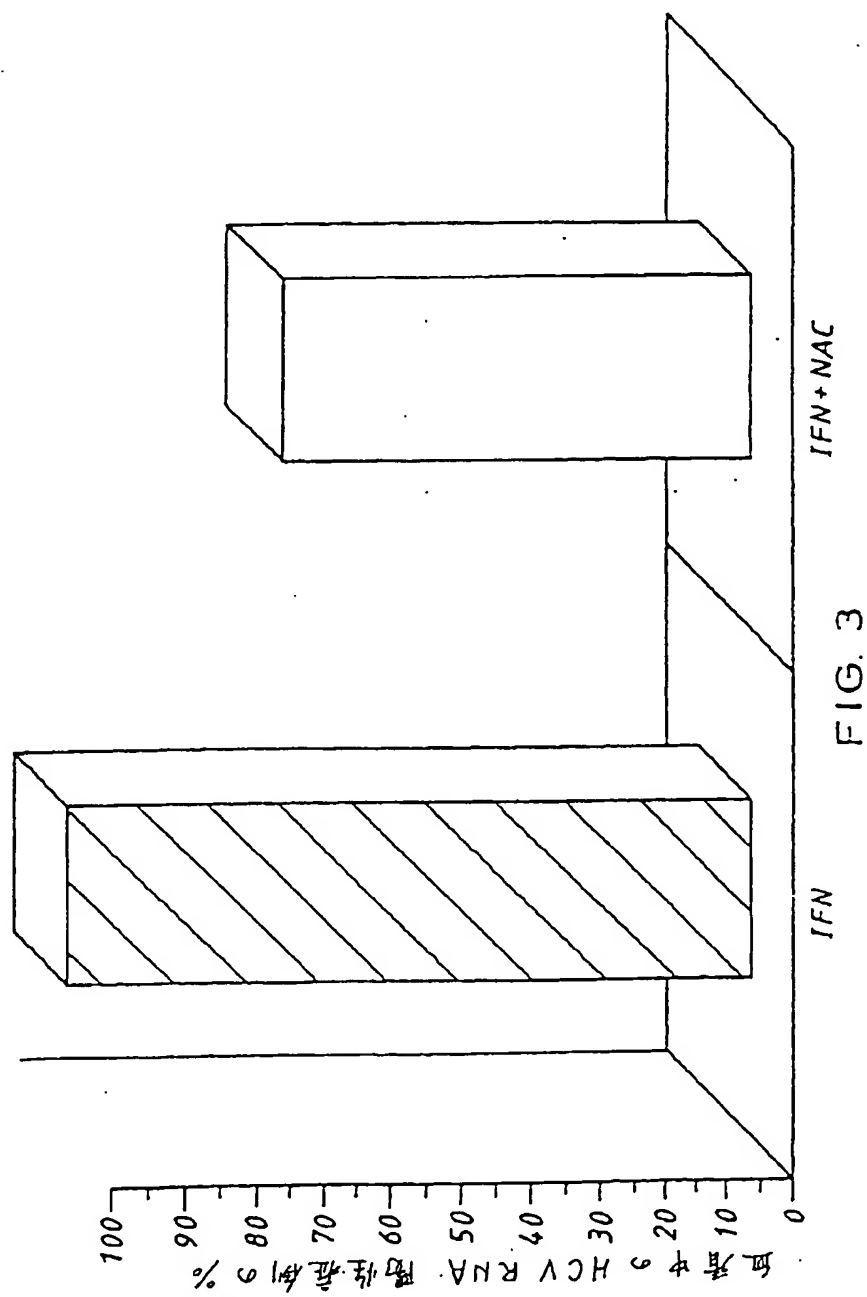
FIG. 2



( 25 )

特表平08-504799

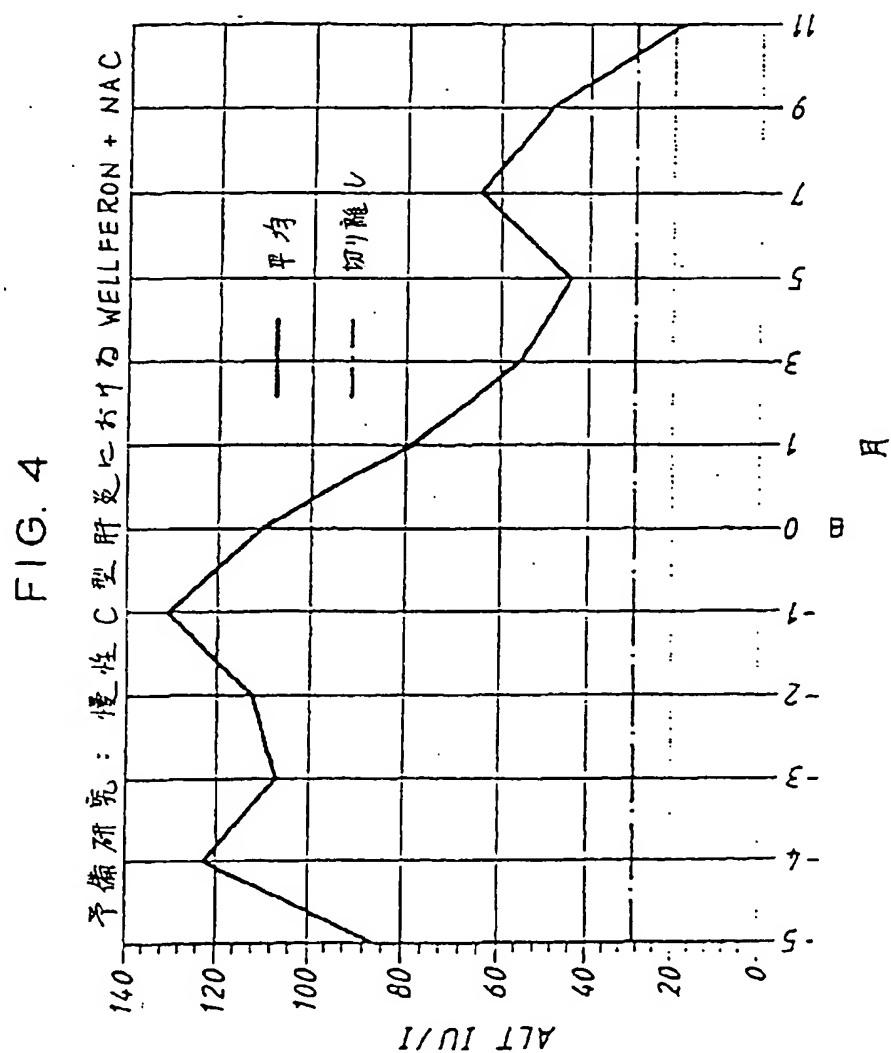
【図 3】



( 26 )

特表平08-504799

【図 4】



( 27 )

特表平08-504799

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. 1 Application No  
PCT/GB 93/02600A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 5 A61K37/66

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 5 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP,A,0 269 017 (CETUS CORPORATION) 1 June 1988 cited in the application see page 4, line 40 - page 6, line 3 ---	1-41
X	FR,A,2 290 222 (G.D. SEARLE &B CO., LIMITED) 4 June 1976 see page 1, line 10 - page 3, line 34 ---	1-41
X	US,A,4 762 705 (DAVID RUBIN) 9 August 1988  see column 2, line 40-55 see column 3, line 46 - column 4, line 5 --- -/-	1,6,10, 16,20, 26, 29-31, 36,39

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 March 1994

Date of mailing of the international search report

27. 04. 94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5118 Patentamt 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tlx. 31 651 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

( 28 )

特表平08-504799

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No.  
PCT/GB 93/02600

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US,A,4 100 150 (TERENCE CARTWRIGHT) 11 July 1978 see column 1, line 7 - column 3, line 18 ---	1-41
A	CANCER RESEARCH vol. 45, no. 8 , August 1985 pages 3444 - 3447 PIETRO GHEZZI ET AL. 'ROLE OF REACTIVE OXYGEN INTERMEDIATES IN THE INTERFERON-MEDIATED DEPRESSION OF HEPATIC DRUG METABOLISM AND PROTECTIVE EFFECT OF N-ACETYL-CYSTEINE IN MICE.' see the whole document -----	1,7,10, 11,17, 19,20, 27,31, 37,39

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

( 29 )

特表平08-504799

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat application No.

PCT/GB93/02600

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Remark: Although claims 31 to 41 are directed to a method of treatment of the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

( 30 )

特表平08-504799

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat. Application No.  
PCT/GB 93/02600

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0269017	01-06-88	CA-A- 1321349	17-08-93
		DE-A- 3780770	03-09-92
		ES-T- 2042529	16-12-93
		JP-A- 63190831	08-08-88
		US-A- 4985241	15-01-91
FR-A-2290222	04-06-76	GB-A- 1526205	27-09-78
		BE-A- 835355	01-03-76
		CA-A- 1059029	24-07-79
		DE-A- 2549768	20-05-76
		JP-A- 51091320	10-08-76
US-A-4762705	09-08-88	NONE	
US-A-4100150	11-07-78	NONE	

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**